

## 키토산을 이용한 멸치어유의 미세캡슐화

임상빈 · 좌미경

제주대학교 식품공학과

### Microencapsulation of Anchovy Oil using Chitosan

Sangbin Lim and Mi-Kyung Jwa

Department of Food Science and Engineering, Cheju National University

#### Abstract

Microcapsules of an anchovy oil were prepared from an oil/water emulsion injected into a NaOH solution by an airless paint sprayer with process variables such as wall material concentration, emulsifier type and concentration, ratio of a wall material to a core material, and dispersion fluid concentration. Chitosan was used as a wall material. 1.0% aqueous solution of chitosan as a wall material, and 3% of a 1:1 ratio of ESPR-25 and TW-20 as an emulsifier was found to be appropriate for microencapsulation of an anchovy oil in terms of microcapsule size and size distribution, and emulsion stability. An estimate of size distribution by microscopic examination showed that diameter of microcapsules ranged from 7.1 to 57.3  $\mu\text{m}$ . The optimum ratio of a chitosan solution to an anchovy oil was 90:10(wt/wt). As a dispersion fluid, 0.4% sodium hydroxide was optimum.

Key words: anchovy oil, microencapsulation, chitosan

## 서 론

어유에 함유되어 있는 고도불포화지방산인 EPA와 DHA는 식품영양학적 가치뿐만 아니라 성인병 등 질병의 예방과 치료에 관한 약리효과로 인하여, 어유를 이용한 식품화와 제약화에 많은 연구와 관심이 집중되고 있다. 그런데 어유중의 고도불포화지방산은 산소, 광선, 열에 민감하기 때문에 이들에 의하여 어취와 쓴맛이 유발된다(Kinsella, 1988). 이를 방지하기 위하여 미세캡슐화가 많이 시도되고 있는데, 미세캡슐화 기술은 유용성분을 인위적으로 포장하는 기술로서 의약품, 공업재료, 기록재료, 농업재료, 향료 및 식품 분야에 응용될 수 있다. 미세캡슐화 기술은 향료, 영양성분 등의 불안정한 물질을 외부환경 즉 빛, 산소, 수분으로부터 격리시키고, 독성, 냄새, 맛을 은폐시키며, 고형화시켜 취급을 간편하게 하고, 내용물의 용출속도를 조절하는 목적으로 이용되고 있다(Reineccius, 1995).

미세캡슐 소재로서 키토산은 수산물 가공시 폐기물에서 대량으로 얻을 수 있는 계와 새우 등 갑각류 껍질의 주 성분으로서, 천연에서 아주 드물게 존재하는 염기성 아미노 다당류이다. 키토산은 자연계의 천연 고분자인 키틴을

탈아세틸화하여 얻어지는데, 1970년경 폐수처리용 중금속 흡착제로 최초로 사용된 이후 의료용 재료, 식품산업, 생물공학, 섬유산업 및 화장품공업 분야 등 다방면에서 응용 연구가 활발하다. 특히 키토산은 생체적합성과 생분해성이 우수하고 인체에 독성이 거의 없으며, 면역반응 등의 부작용이 적어 의료용 신소재 및 약물전달체로서 그 전망이 밝다. 키토산으로부터 여러 가지 성형품이 제조되고 있는데, 키토산을 초산 수용액에 용해시킨 후 건조하면 필름이 제조되며, 또 키토산 초산용액을 일카리 용액에 한방울씩 떨어뜨리면 구슬을 만들 수 있으며, 그 외에 섬유, 중공사, 미세캡슐 등에 응용되고 있다(김세권과 이용호, 1997).

본 연구에서는 키토산을 캡슐소재로 하여 키토산의 농도, 유화제의 종류와 농도, 캡슐소재 용액과 어유의 비율, dispersion fluid의 농도를 달리하여 멸치어유의 미세캡슐화를 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 멸치어유 제조

멸치어유는 1997년 4월에 어획된 멸치를 산지에서 구입하여 약 1.5 kg 씩 증기실에서 쪄 후 압착식 압착기로 착즙한 것을 hexane으로 추출한 후 40°C에서 회전진공증발농축하여 갈색병에 넣고 head space를 질소가스로 치환한 후 약 -20°C에서 저장하면서 시료로 사용하였다.

Corresponding author: Sangbin Lim, Department of Food Science and Engineering, Cheju National University, #1 A-rang, Cheju, Cheju-do 690-756, Korea

### 캡슐소재 및 유화제

캡슐소재(wall materials)로는 키토산(chitosan)((주)건풍 바이오)을 사용하였으며, 유화제로는 HLB 값에 따라 ESPR-25(polyglycerine polylinoleate, HLB=0.5), ES-7 (glycerin monostearate, HLB=3.8~4.3), SPAN-60 (sorbitan stearate, HLB=6.8~8.6), SE-11(sucrose fatty acid ester, HLB=11), TW-20 (sorbitan laurate+ethylene oxide, HLB=16) ((주)일신유화)을 사용하였다.

### 미세캡슐화

키토산을 1% 구연산 용액에서 가열·교반하면서 용해한 후 No. 5A 여과지로 감압여과하여 1% 키토산 용액 (pH 2.98)을 제조하였다. 키토산 용액 90g에 어유 10g 과 유화제로 TW-20과 ESPR-25(1:1)를 3% 첨가하여 2분간 균질화(bio-mixer, Nissei, Japan) 시킨 후 0.4% NaOH 용액(pH 12.42) 500 mL에 airless sprayer(No. 305E, Wagner Spray Tech. Co., USA)를 사용하여 분무하였다.

키토산의 농도로는 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%를, 유화제 종류로는 HLB 값이 다른 ESPR-25, ES-7, SPAN-60, SE-11, TW-20을, 유화제 농도로는 어유에 대하여 1, 3, 5, 8% 첨가하였고, 캡슐소재 용액과 어유의 비율로는 95:5, 90:10, 70:30을, dispersion fluid 농도로는 0.2, 0.3, 0.4, 0.5% NaOH 용액을 사용하였다. 제조된 에멀전 중의 미세캡슐은 캡슐의 생성여부와 안정성을 검

사하기 위하여 형광현미경(Nikon Eclipse E600, Japan)을 사용하여 1,000배 배율로 검경을 실시하였고, 캡슐의 크기도 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 캡슐소재 농도의 선정

캡슐소재 농도는 캡슐의 견고성과 핵물질을 캡슐 내에 유지하는 능력에 영향을 미치기 때문에 미세캡슐의 수율과 저장안정성에 중요한 요인으로 작용한다(Chang, 1997). 따라서 캡슐소재 농도가 멀치어유의 미세캡슐화에 미치는 영향을 측정하기 위하여, 키토산의 농도를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%로 달리하여 멀치어유를 미세캡슐화하였다. 현미경 관찰 결과(Fig. 1) 키토산의 농도가 낮을수록 입자크기는 컸고 입자수는 적은 반면, 키토산 농도가 높을수록 입자수가 많았고 작은 입자들이 조밀하게 분포되어 있었다. 키토산 농도가 낮을수록 외관상 에멀전의 색깔은 약한 황색을 띠었으며, 어유 냄새가 강한 것으로 보아 미세캡슐화가 잘 되지 않은 것으로 추정되었다. 형성된 미세캡슐의 크기(Table 1)는 키토산의 농도에 따라 7.1~57.3  $\mu\text{m}$  였으며, 키토산 농도가 높을수록 입자크기는 작았다. 이근태 등(1997)도 캡슐형 비료와 제조제 제조시 비료와 제조제의 투과량 즉 캡슐 밖으로의 용출량은 키토산의 농도 0.2%에서 가장 높았고 1%에서 가장 낮아, 캡슐소재인 키토산의 농도가 높을수록 비료와 제조제의 미세캡슐이 잘 형성되었다고 보고하였다.

### 유화제의 선정

멀치어유의 미세캡슐화에 적합한 유화제를 선정하기 위하여 HLB(hydrophilic-hydrophobic balance) 값이 다른 유화제 종류별로(ESPR-25, ES-7, SPAN-60, SE-11, TW-20) 첨가하여 멀치어유를 미세캡슐화하여 현미경 관찰하였다(Fig. 2). HLB값이 0.5로 가장 낮은 ESPR-25(A)는 입자크기가 가장 컸고 입자수는 가장 적었다. ES-7(B)은 작은 입자와 더불어 큰 입자도 많이 분포되어 있었다. SPAN-60(C)은 입자수가 적었으며 입자들이 뭉쳐져 있지는 않았지만 빈 공간이 많았다. SE-11(D)은 ES-7(B)과 유사하였지만 입자수는 적었다. TW-20(E)은

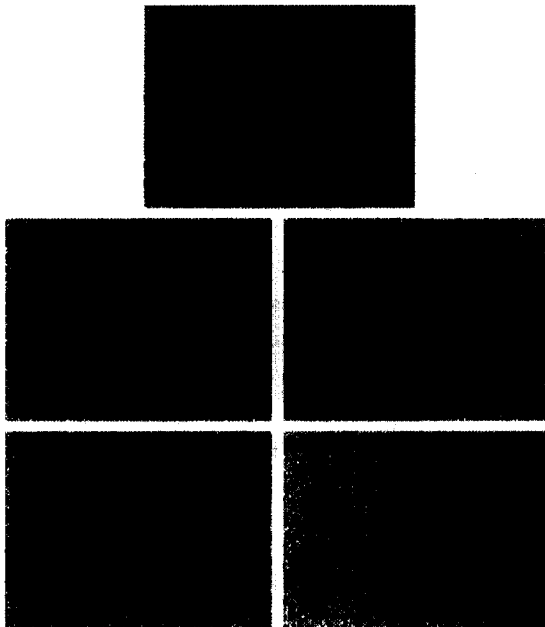


Fig. 1. Photomicrographs of chitosan microcapsules with various concentrations of wall material(magnification: 1000X). A: 0.2%, B: 0.4%, C: 0.6%, D: 0.8%, E: 1.0%.

Table 1. Particle size distribution of chitosan microcapsules with various concentration of a wall material

Conc. of chitosan (%)	Particle size( $\mu\text{m}$ )
0.2	26.5~57.3
0.4	20.7~50.7
0.6	17.1~47.8
0.8	14.0~31.1
1.0	7.1~25.8

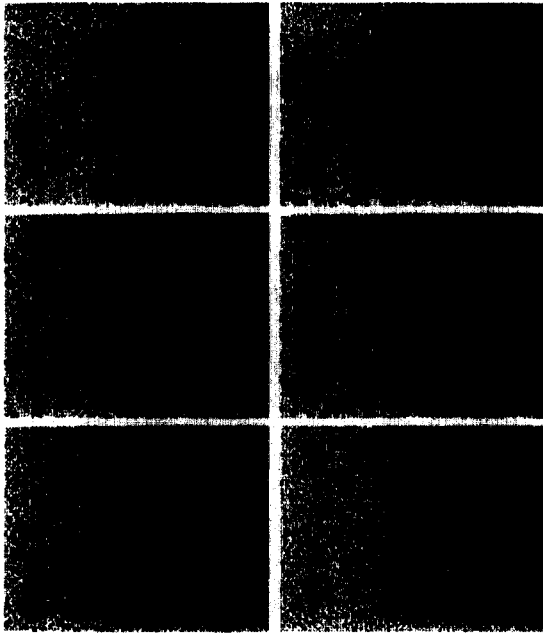


Fig. 2. Photomicrographs of chitosan microcapsules with various emulsifiers. (magnification: 1000X). A: ESPR-25, B: ES-7, C: SPAN-60, D: SE-11, E: TW-20, F: ESPR-25 + TW-20.

입자크기가 작았고 입자수가 많았으며 조밀하게 분포되어 있었다. ESPR-25와 TW-20을 1:1로 첨가한 것(F)은 입자크기가 가장 작았으며 매우 조밀하게 분포되어 있었다. 육안 관찰 결과 SPAN-60은 에멀전의 색깔이 하얗지만 상층에는 작은 입자의 응고물이 부유되어 있었는데, 방치하였을 때 두층으로 분리되었다. 입자수나 크기 면에서 ESPR-25와 TW-20을 1:1로 혼합한 유화제가 가장 우수하였다. 유화제의 종류에 따른 미세캡슐의 입자크기 분포 (Table 2)는 18.7~77.3 mm로, 유화제의 HLB값이 높을 수록 입자크기는 작았다.

Chang (1997)은 DHA를 waxy corn starch로 어유를 미세캡슐화하였는데, HLB가 15보다 높은 유화제는 친수성으로 수중유적형 에멀전을 안정화시키기 때문에 미세캡슐의 수율이 90% 이상으로 높은 반면, HLB가 5 이하

Table 2. Particle size distribution of chitosan microcapsules with various emulsifiers

Emulsifier type	HLB value	Particle size(μm)
ESPR-25	0.5	46.3~77.3
ES-7	3.8~4.3	41.0~62.0
SPAN-60	6.8~8.6	35.9~62.5
SE-11	11	34.0~53.9
TW-20	16	18.7~44.2

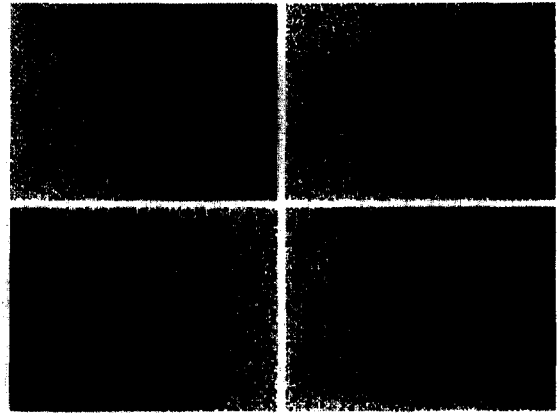


Fig. 3. Photomicrographs of chitosan microcapsules with various concentrations of emulsifier(ESPR-25+TW-20) (magnification: 1000X). A: 1%, B: 3%, C: 5%, D: 8%

인 유화제는 친유성으로 유중수적형 에멀전을 안정화시키기 때문에 수율이 50% 이하로 감소하였다고 보고하였다. 특히 TW20과 TW85를 혼합하여 사용하였을 때 두 종류의 유화제에 의한 synergistic effect 때문에 수율이 97.5% 까지 증가하였다고 보고하였다.

유화제 농도의 선정

어유에 대하여 유화제 첨가량을 1, 3, 5, 8%로 달리 하여 멸치어유의 미세캡슐을 제조한 후 현미경 관찰하였다(Fig. 3). 유화제 농도가 1%(A)였을 때는 큰 입자들이 등성등성 분포되어 있었고 입자수는 매우 적었다. 반면 3%(B)인 경우는 작은 입자들이 가장 조밀하게 분포되어 있었다. 유화제의 농도가 5(C), 8%(D)에서는 미세한 입자들이 조밀하게 분포되어 있었으나 3%보다 더 좋은 효과를 기대할 수는 없었다. 유화제 농도가 높은 경우에는 작은 입자들이 큰 입자 속에 모여 inclusion된 상태로 존재하는 특이한 현상을 관찰할 수 있었다.

캡슐소재와 어유의 비율 선정

첨가되는 핵물질의 비율은 에멀전 형성과 안정성에 중요하며, 미세캡슐의 밀도와 크립화율에도 영향을 미친다(Chang, 1997). 따라서 캡슐소재 용액과 어유의 비율을 70:30, 90:10, 95:5로 달리하여 멸치어유를 미세캡슐화하여 현미경 관찰하였다(Fig. 4). 키토산 용액과 어유의 비율이 90:10일 때 미세캡슐의 입자크기는 작았으며 입자수는 많아 입자들이 가장 조밀하게 분포되어 있었다. 95:5일 때는 입자수는 매우 적었으며, 큰 입자들이 군데군데 분포되어 있었다. Kim 등(1996)도 1% agar와 0.5% gelatin 용액을 캡슐소재로 어유를 미세캡슐화시켰을 때 캡슐소재 용액과 어유의 비율이 60:40에

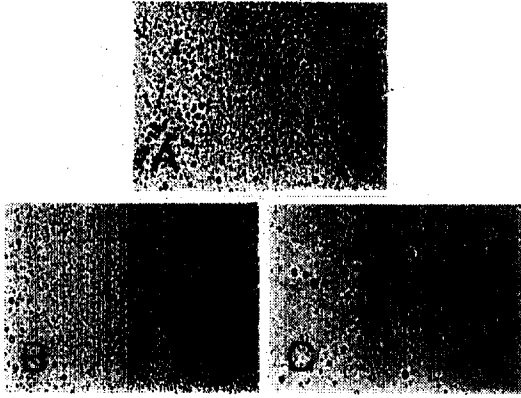


Fig. 4. Photomicrographs of microcapsules with different ratios of chitosan solution to oil(magnification: 1000X). A: 70:30, B: 90:10, C: 95:5.

서 평균수율이 72.1%인 반면 80:20에서는 95.6%로, 캡슐소재의 비율이 증가할수록 즉 어유의 비율이 감소할수록 수율이 증가하였고 캡슐의 유화안정성도 우수하였다고 보고하였다.

#### Dispersion fluid 농도의 선정

Dispersion fluid로서 NaOH의 농도를 0.2, 0.3, 0.4, 0.5%로 달리하여 멸치어유를 미세캡슐화한 후 현미경 관찰하였다(Fig. 5). NaOH 농도가 높을수록 작은 입자들이 조밀하게 분포되어 있었는데, 0.5% NaOH인 경우에는 입자들이 서로 엉겨 붙어 뭉쳐져 있었다. 분무 후에 멸전의 pH는 NaOH 농도가 0.2, 0.3, 0.4, 0.5%인 경우 각각 11.8, 12.1, 12.2, 12.3으로 키토산 용액의 유입에 따라 pH가 낮아짐을 알 수 있었으며, NaOH 농도가

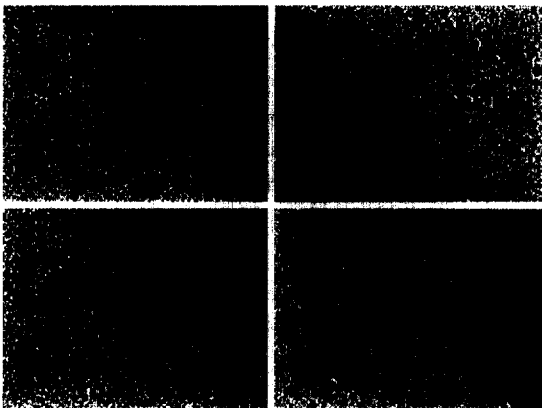


Fig. 5. Photomicrographs of chitosan microcapsules with various concentrations of a dispersion fluid(sodium hydroxide) (magnification: 1000X). A: 0.2%, B: 0.3%, C: 0.4%, D: 0.5%.

낮을수록 그 영향은 컸다.

하병조 등(1998)은 산-알칼리에 의한 중화반응으로 키토산 비드 제조시, 알칼리 용액의 농도가 5% 이하로 낮은 경우에는 비교적 느린 확산속도로 인하여 응집된 형태의 비드를 형성한 반면, 알칼리 용액의 농도가 20% 이상으로 지나치게 높은 경우에는 빠른 확산에 의하여 비드의 내부와 표면의 압력차가 생기게된 결과 비드 입자가 파괴된 형태를 보였다고 보고하였다. 또한 키토산 미세캡슐의 팽윤부피는 산성용액에서는 증가하였고 알칼리 용액에서는 감소하였는데, 이는 수용액 상태에서 키토산의  $-NH_2$ 의 pKa 값은 6.1~6.3으로, pH 6.1 이하의 산성 수용액상에서는 키토산의 아미노기들은 대부분  $-NH_3^+$ 로 양성자화되며, 이로 인하여 고분자 사슬 사이의 반발이 일어나게 되기 때문이었다고 보고하였다.

## 요 약

멸치어유를 캡슐소재의 농도, 유화제의 종류와 농도, 캡슐소재 용액과 어유의 비율, dispersion fluid의 농도를 달리하여 미세캡슐화를 시도하였다. 캡슐소재로는 키토산을 사용하였는데, 키토산의 농도가 낮을수록 미세캡슐의 입자크기는 컸고 입자수는 적은 반면, 농도가 높을수록 입자수가 많았고 작은 입자들이 조밀하게 분포되어 있었다. 미세캡슐의 크기는 키토산의 농도에 따라 7.1~57.3  $\mu m$ 였으며, 키토산 농도가 높을수록 입자크기는 작았는데, 캡슐소재 농도로는 1%가 적당하였다. 유화제 종류로는 입자수나 크기 면에서 ESPR-25와 TW-20을 1:1로 혼합한 유화제가 가장 우수하였고, 미세캡슐의 입자크기 분포는 18.7~77.3  $\mu m$ 로 유화제의 HLB값이 높을수록 입자크기는 작았으며, 유화제 농도로는 3%가 가장 적당하였다. 키토산 용액과 어유의 비율은 90:10일 때, dispersion fluid의 농도로는 0.4% NaOH일 때 미세캡슐의 입자크기와 분포, 유화안정성에서 가장 우수하였다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산부에서 시행한 수산특정연구사업(수출용 수산 신제품 개발) 지원으로 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- 김세권, 이용호. 1997. 키토산·키토산의 식품공업분야로의 응용. 한국키토산·키토산연구회지 2(4): 43-59  
 이근태, 김상무, 박성민, 손병일, 김형섭, 이상호. 1997. Chitosan과 alginic acid를 이용한 캡슐형 비료 및 제초제의 투과특성. 한국수산학회지 30(2): 313-318  
 하병조, 이옥섭, 박성규, 이윤식. 1998. 키토산 마이크로비드,

- 마이크로캡슐, 마이크로스피어 및 베시클의 제조와 생화학  
적 응용. 한국키토산·키토산연구회지 **3**(1): 67-74
- Chang, P.S. 1997. Microencapsulation and oxidative stability of  
DHA. In: *Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods*. Shahidi,  
F. and K.R. Cadwallader (eds.). 22, ACS Symp. Series, No.  
674, American Chemical Society, pp 264-273
- Kim, C.H., K.W. Lee, S.C. Baick, H.S. Kwak, and J.O. Kang.  
1996. Studies on the microencapsulation of  $\omega$ -3 poly-  
unsaturated fatty acid. *Korean. J. Food Sci. Technol.* **28**(4):  
743-749
- Kinsella, J.E. 1988. Food lipids and fatty acids: Importance in  
food quality, nutrition, and health. *Food Technol.* **42**(10):  
124-149
- Reineccius, G.A. 1995. Controlled release techniques in the  
food industry. In: *Encapsulation and Controlled Release of  
food Ingredients*. Risch, S.J. and G.A. Reineccius (eds.).  
ACS Symp. Series 590, American Chemical Society,  
Washington, D.C. pp8-25